

医院内感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌分型及临床分析

刘晔华 王世瑜 张坚磊 穆红

【摘要】 目的 研究天津市第一中心医院内感染耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的 *clfB* 分型。**方法** 对2006—2012年天津市第一中心医院已进行 SCCmec 分型且 MLST 分型为 ST239 的临床非重复分离的 MRSA, 从 ICU ($n=35$) 和非 ICU 科室 ($n=7$) 共选取 42 株进行 *clfB* 分型。**结果** 42 株 MRSA 均属于 *clfB* 的系列 3, ICU 的 35 株 MRSA 可分为 6 个型别, 3-52 占 42.9%, 3-52E 占 37.1%, 3-50 占 8.6%, 3-52C 占 5.7%, 3-50A 和 3-50E 分别占 2.9%; 非 ICU 的 7 株 MRSA 分属 3 个型别, 3-52 占 42.8%, 3-52E 和 3-50 分别占 28.6%; *clfB* 分型联合 SCCmec 分型效果 (分型指数 $ID=0.767$) 优于单纯应用 *clfB* ($ID=0.688$) 和 SCCmec ($ID=0.303$), *clfB*/SCCmec 联合分型可以将系列 3 的 42 株 MRSA 分为 10 个型别, 其中 SCCmec III-*clfB*3-52E 是主要克隆, 占 40.4%。相比非 ICU 科室, ICU 感染 MRSA 的患者住院时间较长、使用抗菌药物治疗时间较长, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论** 基于可变串联重复序列的 *clfB* 分型方法分辨力高, 可用于 MRSA 快速分型。

【关键词】 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 凝集因子 B; 可变串联重复序列; 基因分型

The Clumping factor B gene typing in discriminating the strains of nosocomial-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Liu Yehua, Wang Shiyu, Zhang Jianlei, Mu Hong. Medical Laboratory Department, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China
Corresponding author: Mu Hong, Email: tjmuhong@sina.com

【Abstract】 Objective To evaluate the *clfB* typing method in discriminating the ST239 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from patients under nosocomial infection in Tianjin first central hospital so as to access the clinical risk factors and outcomes of the MRSA nosocomial infection from ICU and non-ICU departments. **Methods** Forty-two stains of MRSA with known SCCmec type were chosen in both ICU ($n=35$) and non-ICU ($n=7$) wards, from 2006 to 2012, of which MLST genotype was ST239. Clinical risk factors and rates on drug resistant to MRSA were counted, respectively. **Results** All the isolates of MRSA belonged to the same lineage 3 and 6 heplotypes, based on *clfB* variable-number tandem repeats typing. Thirty-five isolates from ICU belonged to 6 heplotypes, among which *clfB*3-52, 3-52E, 3-50, 3-52C, 3-50A and 3-50E were accounted for 42.9%, 37.1%, 8.6%, 5.7%, 2.9% and 2.9%, respectively. Seven isolates from non-ICU belonged to 3 heplotypes, in which 3-52, 3-52E and 3-50 were accounted for 42.8%, 28.6%, 28.6%, respectively. When *clfB* typing was combined with SCCmec typing in use, results showed that the index of discrimination as 0.767, better than *clfB* ($ID=0.688$) or SCCmec ($ID=0.303$) used alone. SCCmec III-*clfB*3-52E seemed as the major clone among the 10 heplotypes of *clfB*/SCCmec typing, which was accounted for 40.4%. There were significant differences on the length of hospitalization ($P<0.005$) and the duration of antibiotics use ($P<0.05$) between ICU and non-ICU. **Conclusion** The *clfB* typing method which was based on variable-numbers of tandem repeats showed powerful ability of resolution. It could also be combined with MLST and SCCmec typing to be used in local epidemiological investigations.

【Key words】 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; Clumping factor B gene; Variable-number tandem repeat; Genotyping

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)感染是全球公共卫生问题之一,掌握其分子特征有助于控制

感染。多位点序列分型(MLST)^[1]技术对局部地区散发流行菌株的分型能力有限,基于MRSA“附属”基因凝集因子B(*clfB*)的R区可变串联重复序列(VNTR)的基因分型是一个理想选择:首先,*clfB*是黏附素基因家族成员之一^[2],其编码的ClfB可锚定

于人类鼻黏膜的纤维蛋白和角蛋白,使菌株能够定植于鼻咽部,因此 *clfB* 在致病机制中发挥重要作用;其次,从遗传角度看,MRSA 成功定植并感染宿主与 *clfB* R 区的长度密不可分,R 区长度范围 420~804 bp,由编码丝氨酸-天冬氨酸(SD)的高度变异重复序列组成,由于核苷酸突变使 SD 序列增加或丢失,使得该区域具有遗传多态性^[3],在核苷酸水平表现为 VNTR 的个数、特征和排列顺序的差异,这是分型的理论基础;第三,*clfB* 具有体内外及宿主之间传播的稳定性,这是应用 VNTR 进行分型的必要前提^[4]。

本研究对天津市第一中心医院院内感染的非重复分离 ST239 型 MRSA 从 ICU 和非 ICU 科室选取 42 株进行 *clfB* 分型,并探讨 SCCmec/*clfB* 联合的分型能力。

材料与方 法

1. 菌株来源:依据《医院感染诊断标准(试行)》(卫医发[2001]2号)^[5],结合患者临床诊断和症状,依据患者采样时间距入院时间间隔(>48 h)以及感染部位和标本类型是否对应,筛选 2006 年 1 月至 2009 年 11 月住院患者分离的医院感染 MRSA,同一患者 10 d 内只取第一次分离菌株。标本类型包括无菌体液(血液 1 份、胸水 2 份)3 份、下呼吸道分泌物(均是上皮细胞<10 个/LP)38 份、伤口分泌物 1 份。

2. 主要仪器和试剂:法国梅里埃 VITEK-II 全自动微生物分析系统及配套革兰阳性菌鉴定卡 GP 和革兰阳性菌药敏卡 AST-GP67;美国 ABI9600PCR 扩增仪; α 紫外凝胶成像仪;DYCP-31 电泳仪。血琼脂平板和 Mueller-Hinton 琼脂平板购自天津市金章科技发展有限公司;头孢西丁药敏纸片购自英国 Oxoid 公司;溶葡萄球菌素 lysostaphin、rTaqDNA 聚合酶、10 \times PCR 缓冲液(含 MgCl₂)和 dNTP 购自日本 TaKaRa 公司;所有 PCR 引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 扩增产物纯化与测序由上海英骏生物技术有限公司完成。

3. MRSA 的筛选、分子鉴定和药敏试验:MRSA 通过头孢西丁纸片扩散法(质控菌株:ATCC25923)和苯唑西林最低抑菌浓度(MIC,质控菌株:ATCC29213)法初步筛选,参照文献[6]进行确认。分离菌株的鉴定和药敏试验均利用 VITEK-II 全自动微生物分析系统进行,并参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)2013 年版 M100-S23 规定判定耐药(R)、中介(I)和敏感(S)^[7]。

4. MRSA 盒式染色体 *mec* (SCCmec) 分型及 MLST 分型:挑取血平板上新鲜过夜的 3~5 个单个菌落,混悬于 300 μ l 含有 30 U/ml 溶葡萄球菌素的 TE 缓冲液,37 $^{\circ}$ C 作用 60 min。15 000 r/min 离心 30 s。测定上清液 A_{260}/A_{280} 比值,计算 DNA 含量,所得上清液分装并-20 $^{\circ}$ C 保存备用。SCCmec 分型参照 Oliveira 和 de Lencastre^[8]的方法设计引物,建立多重 PCR 反应体系,总体积为 25 μ l;MLST 分型参照文献[9]设计的 7 个管家基因(*arcC*、*aroE*、*glpF*、*gmk*、*pta*、*tpi* 和 *yqiL*)的引物序列,退火温度为 55 $^{\circ}$ C 30 s,将 PCR 产物纯化并双向测序,测序结果利用 DNAMAN 软件校对后提交至 MLST 网站(www.mlst.com),进行序列比对,获得该菌株的等位基因图谱,由此确定每株 MRSA 的序列型。

5. *clfB* 的 SD VNTR 分型:参照文献[10]的引物, *clfBF2*: 5'-GTT ATG GTG GTG GAA GTG CTG-3', *clfBR1*: 5'-CGC TCT TAT CTC CTG TTT CTG G-3',反应条件:94 $^{\circ}$ C 4 min,94 $^{\circ}$ C 30 s,59 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 60 s,30 个循环,72 $^{\circ}$ C 10 min,其中退火温度由 Gomes 等^[10]的 55 $^{\circ}$ C 提高至 59 $^{\circ}$ C,以控制非特异性条带的产生。PCR 扩增产物经纯化并双向测序后,以 Lamers 等^[3]设立的 109 个 VNTR 为依据,通过串联重复序列查找程序(<http://tandem.bu.edu/trf/trf.html>)分析测序结果,得到 *clfB* 图谱,参照 Ugolotti 等^[11]的罚分法则划分 *clfB* 同系列的不同型别。

6. 统计学分析:采用 WHONET5.6 软件分析药敏结果;应用 SPSS 18.0 软件对临床资料进行统计,采用 *t* 检验、Pearson χ^2 检验或者连续校正 χ^2 检验对 MRSA 同一变量进行横向比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义;分型指数(ID)的计算采用 EpiCompare 软件(<http://www.ridom.de/epicompare>)^[12],ID=1 提示该分型方法能将所有测试菌株分为不同型别,ID=0 提示所有测试菌株属于同一型别。

结 果

1. MRSA 确认:42 株菌经初筛、VITEK-II 上机鉴定(符合率>99%)和 *mecA* 基因的 PCR 扩增均确认为 MRSA。

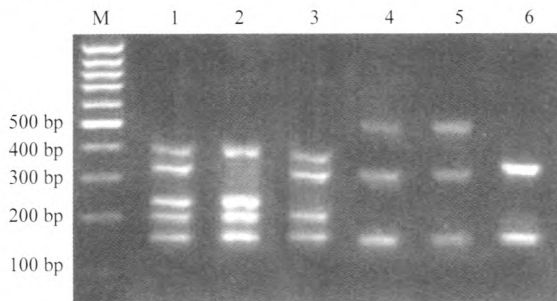
2. MRSA 的药敏试验:42 株菌均对万古霉素和利奈唑胺敏感;相比非 ICU,ICU 的 MRSA 分离株对大环内酯类、氨基糖苷类、喹诺酮类和利福平具有较高耐药率,但复方新诺明的耐药率低于前者(表 1)。

3. SCCmec 分型:42 株 MRSA 经过 SCCmec 分型,III 型 34 株,占 80.9%;III a 型 1 株,占 2.4%;I 型 3

表 1 42 株 MRSA 对常用抗菌药物的耐药率

抗菌药物	折点 ($\mu\text{g/ml}$)	ICU MRSA (n=35)			非 ICU MRSA (n=7)		
		菌株数 (耐药率, %)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)	菌株数 (耐药率, %)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)
苯唑西林	S \leq 2.0, R \geq 4.0	35(100.0)	16.000	16.000	7(100.0)	0.500	16.000
红霉素	S \leq 0.5, R \geq 8.0	32(90.3)	16.000	16.000	4(60.0)	16.000	8.000
克林霉素	S \leq 0.5, R \geq 4.0	30(87.1)	16.000	16.000	3(46.7)	0.500	0.500
复方新诺明	S \leq 0.1, R \geq 0.1	2(6.5)	0.500	1.000	1(20.0)	1.000	16.000
四环素	S \leq 4.0, R \geq 16.0	32(90.3)	32.000	32.000	4(53.3)	16.000	32.000
利福平	S \leq 1.0, R \geq 4.0	29(83.9)	32.000	32.000	2(33.3)	0.500	32.000
庆大霉素	S \leq 4.0, R \geq 16.0	33(93.5)	32.000	32.000	4(53.3)	32.000	32.000
奈替米星	S \leq 8.0, R \geq 32.0	3(9.7)	4.000	16.000	1(12.5)	4.000	32.000
洛美沙星	S \leq 2.0, R \geq 8.0	30(87.1)	16.000	16.000	6(87.5)	16.000	16.000
环丙沙星	S \leq 1.0, R \geq 4.0	30(87.1)	8.000	8.000	3(46.7)	1.000	16.000
莫西沙星	S \leq 0.5, R \geq 2.0	30(85.2)	8.000	8.000	0(0)	0.125	64.000
左旋氧氟沙星	S \leq 1.0, R \geq 4.0	30(85.2)	32.000	64.000	0(0)	0.250	0.125
万古霉素	S \leq 2.0, R \geq 16.0	0(0)	1.000	1.000	0(0)	0.500	1.000
利奈唑胺	S \leq 4.0, R \geq 8.0	0(0)	1.000	2.000	0(0)	2.000	1.000

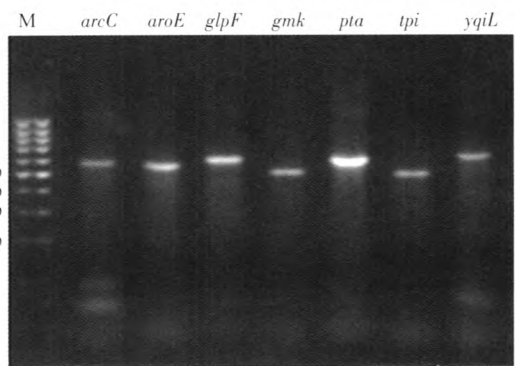
株, 占 7.1%; II 型 2 株, 占 4.8%; IV 型 2 株, 占 4.8% (图 1)。



注: M: 相对分子质量标准; 1: III 型; 2: IIIa 型; 3: II 型; 4, 5: I 型; 6: IV 型

图 1 MRSA 菌株 SCCmec 分型

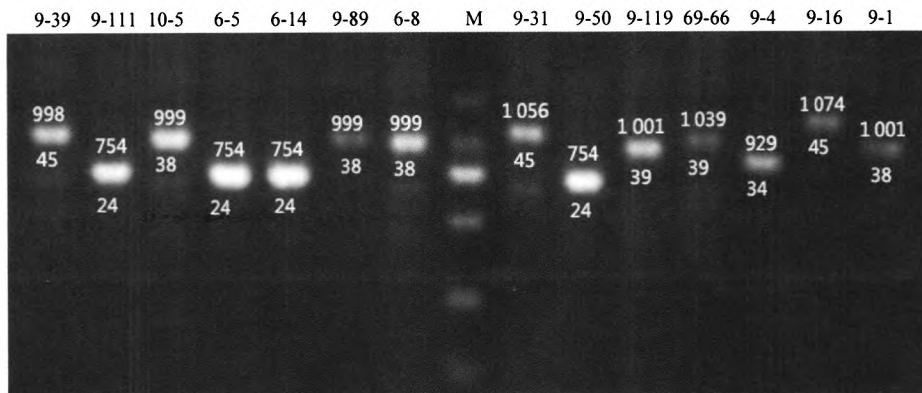
4. MLST 分型: MRSA 的 7 个管家基因 (*arcC*、*aroE*、*glpF*、*gmk*、*pta*、*tpi* 和 *yqiL*) 的扩增产物长度为 456、456、465、429、474、402 和 516 bp, 将产物序列与 www.mlst.net 上公布的序列进行比对, 结果显示, 42 株菌均为 ST239 型 (图 2)。



注: M: 相对分子质量标准

图 2 MRSA 7 个管家基因 PCR 扩增

5. *clfB* R 区的 VNTR 分型: 42 株 MRSA 的 VNTR *M* 为 38 (24~45), 扩增产物长度 *M* 为 998 (754~1056) bp; ICU 的 35 株 MRSA 划分为系列 3 的 6 个型别, *clfB*3-52 是最主要克隆, 占 42.9%, 其次是 *clfB*3-52E, 占 37.1%; 非 ICU 的 7 株 MRSA 划分为系列 3 的 3 个型别, *clfB*3-52 是主要克隆, 占 42.8% (图 3)。



注: M: 相对分子质量标准, 由上至下依次为 1 500、1 000、750、500、200、100 bp; 条带上方数据为 PCR 产物长度 (bp), 下方数据为相应 R 区的 VNTR 个数

图 3 *clfB* R 区 VNTR 的 PCR 扩增

6. 42 株 MRSA 的分子特征:ICU 的 35 株 MRSA 中,SCCmec III 型 30 例(30/35, 85.7%), I 型 3 例(3/35, 8.6%), IV 型 2 例(2/35, 5.7%);非 ICU 的 7 株 MRSA 中,SCCmec III 型 5 例(5/7, 71.4%), II 型 2 例(2/7, 28.6%)。42 株 MRSA 的 SCCmec/clfB 联合分型结果共 10 个型别,SCCmec III-clfB3-52E 是主要克隆,占 40.4%(表 2)。

表 2 42 株 MRSA 的分子特征

菌株编号	分离日期 (年-月-日)	序列分型 (ST)	SCCmec	clfB 系列	clfB 型别	SCCmec/ clfB
ICU						
69-66	2006-04-12	239	III	3	52	III/3-52
9-4	2007-01-01	239	IIIa	3	52C	IIIa/3-52C
9-1	2007-01-01	239	III	3	52	III/3-52
9-11	2007-01-09	239	III	3	50	III/3-50
9-12	2007-01-09	239	III	3	50	III/3-50
9-19	2007-01-16	239	III	3	52	III/3-52
9-21	2007-01-23	239	IV	3	52E	IV/3-52E
9-24	2007-01-26	239	III	3	52E	III/3-52E
9-25	2007-01-26	239	III	3	50E	III/3-50E
9-113	2007-01-29	239	IV	3	52E	IV/3-52E
9-31	2007-02-07	239	III	3	50	III/3-50
9-39	2007-03-07	239	III	3	50A	III/3-50A
9-45	2007-03-09	239	III	3	52E	III/3-52E
9-48	2007-03-16	239	III	3	52C	III/3-52C
9-52	2007-03-23	239	III	3	52	III/3-52
9-55	2007-03-28	239	III	3	52	III/3-52
9-61	2007-04-03	239	III	3	52	III/3-52
9-66	2007-04-19	239	III	3	52	III/3-52
9-67	2007-04-29	239	III	3	52	III/3-52
9-71	2007-05-06	239	III	3	52	III/3-52
9-72	2007-05-06	239	III	3	52	III/3-52
9-84	2007-05-25	239	I	3	52	I/3-52
9-89	2007-06-01	239	III	3	52	III/3-52
9-98	2007-08-21	239	III	3	52	III/3-52
9-99	2007-09-18	239	III	3	52E	III/3-52E
9-95	2007-10-19	239	III	3	52E	III/3-52E
9-109	2007-11-15	239	III	3	52E	III/3-52E
9-111	2007-11-16	239	I	3	52E	I/3-52E
9-114	2007-11-29	239	I	3	52E	I/3-52E
9-122	2008-02-05	239	III	3	52	III/3-52
6-5	2008-02-28	239	III	3	52E	III/3-52E
6-14	2008-03-07	239	III	3	52E	III/3-52
6-16	2008-03-14	239	III	3	52E	III/3-52E
6-23	2008-04-15	239	III	3	52E	III/3-52
10-5	2009-11-06	239	III	3	52	III/3-52
非 ICU						
9-16	2007-01-15	239	III	3	50	III/3-50
9-33	2007-02-08	239	II	3	50	II/3-50
9-50	2007-03-20	239	III	3	52E	III/3-52E
9-76	2007-05-11	239	II	3	52	II/3-52
9-119	2007-12-29	239	III	3	52	III/3-52
6-8	2008-03-03	239	III	3	52	III/3-52
6-3	2008-03-28	239	III	3	52E	III/3-52E

7. 不同分型方法 ID 的比对:42 株 MRSA 通过 clfB 分型得到 6 个型别,3-52 为最主要型别,占 42.9%,其次为 3-52E(35.7%)和 3-50(11.9%);clfB/SCCmec 联合分型将 42 株 MRSA 分为 10 个型别,SCCmec III-clfB3-52E 是主要克隆,占 40.4%。clfB/SCCmec 联合分型效果 (ID=0.767) 优于单纯应用 clfB (ID=0.688) 和 SCCmec (ID=0.303),见表 3。

表 3 MRSA 不同分型方法分型能力比较

分型方法	不同型别数 (菌株总数)	最大型别 百分比(%)	ID
clfB 测序	6(42)	42.8	0.688
clfB 3'端 500 bp 测序	6(42)	42.8	0.688
SCCmec	4(42)	83.3	0.303
SCCmec/clfB	10(42)	40.4	0.767
SCCmec/clfB 3'端 500 bp 测序	10(42)	40.4	0.767
SCCmec/MLST	4(42)	83.3	0.303

讨 论

本研究的 MRSA 分离株主要集中在 2007 年,且 ICU 科室所占比例较高(35/42, 83.3%),为了更直观地探讨 MRSA 分离株的演变和进化,本研究参照 Ugolotti 等^[11]的罚分法则,对 clfB 同系列内不同型别的划分进行改良,具有相同的 5' 和 3' 端但序列内部存在 VNTR 的插入、缺失或者置换,获得相应罚分,累计分值获得最终型别。

本研究所涉及的医院感染 MRSA 主要来源于下呼吸道标本(38/42, 90.5%),患者相关临床资料显示,28 例(主诊 13 例,合并症 15 例)同期有肺部感染症状,因此该类患者的 MRSA 分离株应视为临床感染菌株;其余 10 例患者入院主诊和出院诊断均未涉及呼吸道感染,应归为定植菌范畴,查阅该 10 例患者调查之前和之后的资料显示,4 例(6-23、9-84、9-98 和 9-114)既往曾入住 ICU,且从感染灶分离得到 MRSA;4 例(9-4、9-39、9-95 和 9-109)在首次分离出 MRSA 之后的 3 次痰培养均分离到 MRSA,万古霉素 MIC 值由起始的 1 μg/ml 增至 2 μg/ml;2 例(6-16、9-76)于 2009 年再次入院,有肺感染症状,且均分离出 MRSA。上述 10 例 MRSA 定植患者好转率只有 30%,Gupta 等^[13]的研究证实,患者入院期间发生 MRSA 定植是引起后续感染和增加死亡率的高危因素,应密切关注。

ICU 科室的 35 株 MRSA clfB 分型主要为 3-52 (42.9%),其次为 3-52E(37.1%),回顾分析相关菌株的临床资料得知,2007 年 1—8 月期间,clfB 分型为 3-52 的菌株呈现散在暴发,2007 年 9 月至 2008 年 4

月期间, 3-52E 替代 3-52 成为主要克隆; 分析其 VNTR 的排列, 发现 3-52E 与 3-52 相比, 缺失 15 个 VNTR, 且在 3' 末端存在单个 VNTR 的置换, 推断 clfB3-52E 为 3-52 的变异体, 可能与 ICU 科室患者抗菌药物应用时间长, 且多为广谱强效抗生素, 造成 MRSA 通过竞争压力选择性进化有关。Young 等^[14]研究发现, MRSA 的鼻腔定植株与血流感染株的差别主要是单个核苷酸突变累积致使某些基因不再表达相应蛋白质, 从而增强其毒力和致病性并获得性耐药, ICU 分离的 MRSA 较非 ICU 对万古霉素和利奈唑胺以外的其他抗菌药物呈现较高水平耐药也佐证了上述推断。Mwangi 等^[15]报道 MRSA H7051 在 ICU 流行且多重耐药, 其 clfB 分型属于 3-52; 2007 年 MRSA TW20 曾在伦敦几家医院的 ICU 引起 2 次暴发流行^[16], 其 clfB 分型属于 3-52。天津市第一中心医院分离的 clfB3-52E、3-52 与 TW20 一样, 属于 ST239 型, 与此同时, ST239 型 MRSA 曾在世界各地的暴发和散发流行中分离到^[17-19]。

来自移植外科、干部科和血液科非 ICU 科室的 7 株 MRSA 分为 clfB3 的 3 个型别, 与 ICU 的主要型别和分离时间段相同, 应警惕该型别菌株在院内散在流行的可能, MRSA 的检出个体多以主诊肺部感染或者合并肺部感染收治入院, 且有严重的基础疾患(如肝炎后肝硬化、糖尿病、高血压或者血液系统恶性肿瘤等), 应引起重视, 防止并杜绝 MRSA 在院内的传播。

clfB 联合 SCCmec 分型效果优于单纯应用 clfB 和 SCCmec 分型。MLST 是基于 MRSA 的 7 个管家基因的分型技术, 而管家基因属于核心基因进化缓慢, 调查局部地区和特定时间区间的散发流行其分型能力有限, 但 MLST 分型结果可以在全球不同实验室间比对, 进而划分克隆群体; SCCmec 分型和 clfB 分型是基于菌株附属基因的分型技术, 附属基因多和菌株的黏附、毒力以及耐药性相关, 受外界环境和宿主的微环境影响, 进化选择压力大, 易发生变异, 这是用作分型的理论基础^[4, 17, 20]。本研究结果显示, clfB 分型图谱的变化主要是 VNTR 的插入、置换或者缺失构成菌株型别的不同, 而不是单个 VNTR 的点突变, 这对考察该菌株的演变和将该基因用作分型工具是强有力的证据^[21]。clfB 图谱的变化是从基因 R 区的 3' 端开始的, 因此本研究试图分析测试菌株 3' 端 500 bp 以内的图谱构成, 结果与对整个 R 区分型的图谱分型结果相同, 这将简化 clfB 基因分型的步骤。

应用 SCCmec/clfB 联合分型可以将 42 株 MRSA 分离株分为 10 个型别, SCCmec III-clfB3-52E 是主要克隆, 占 40.4%。研究发现, SCCmec IV 型的体积小, 比其他型(I、II、III型)更容易在 MRSA 菌株之间传播, 已成为目前社区获得性 MRSA 主要型别。而在美国 CA-MRSA 所致感染不仅仅限于社区, 已成为医院感染的重要原因之一^[22]。值得关注的是在 ICU 科室中, clfB3-52E 群体的 SCCmec 分型结果不一, 其中 9-111 和 9-114 号菌株 SCCmec 分型为 I 型, 9-21 和 9-113 为 SCCmec IV 型, 且 9-113 的患者于 9 个月后再入院, 自下呼吸道标本中分离出 MRSA(编号为 9-95, SCCmec 分型由 IV 型变为 III 型), Hanssen 等^[23]研究认为 SCCmec 灵活, 容易在葡萄球菌中平行传播, 因此不能单纯以 SCCmec 分型分析 MRSA 的演变。最新研究显示, 全基因组测序并比对基于单个核苷酸的变异将有助于研究此类菌株的变异位点, 并从核苷酸和蛋白水平分析细菌的演变^[24, 25], 这将是下一步工作的方向。

参 考 文 献

- [1] Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(6):3140-3145.
- [2] Josefsson E, McCrea KW, Ni Eidhin D, et al. Three new members of the serine-aspartate repeat protein multigene family of *Staphylococcus aureus* [J]. Microbiology, 1998, 144 Pt 12: 3387-3395.
- [3] Lamers RP, Stinnett JW, Muthukrishnan G, et al. Evolutionary analyses of *Staphylococcus aureus* identify genetic relationships between nasal carriage and clinical isolates [J]. PLoS One, 2011, 6(1):e16426.
- [4] Koreen L, Ramaswamy SV, Naidich S, et al. Comparative sequencing of the serine-aspartate repeat-encoding region of the clumping factor B gene (clfB) for resolution within clonal groups of *Staphylococcus aureus* [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(8):3985-3994.
- [5] Ministry of Health of China. Hospital infection diagnostic criteria [J]. Chin Med J, 2001, 81(5):314-320. (in Chinese)
- [6] Pérez-Roth E, Claverie-Martin F, Villar J, et al. Multiplex PCR for simultaneous identification of *Staphylococcus aureus* and detection of methicillin and mupirocin resistance [J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(11):4037-4041.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S23: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-third Informational Supplement [M]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
- [8] Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec elements in methicillin-resistant *S. aureus* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46:2155-2161.
- [9] Enright MC, Day CE, Davies SJ, et al. Multi-locus sequence

- typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus* [J]. Clin Microbiol, 2000, 38:1008-1015.
- [10] Gomes AR, Vinga S, Zavolan M, et al. Analysis of the genetic variability of virulence-related loci in epidemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(1):366-379.
- [11] Ugolotti E, Bandettini R, Marchese A, et al. Molecular characterization of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in pediatric outbreaks using variable tandem repeat analysis with spa and clfB typing [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 69(2):213-217.
- [12] Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity [J]. J Clin Microbiol, 1988, 26(11):2465-2466.
- [13] Gupta K, Martinello RA, Young M, et al. MRSA nasal carriage patterns and the subsequent risk of conversion between patterns, infection, and death [J]. PLoS One, 2013, 8(1):e53674.
- [14] Young BC, Golubchik T, Batty EM, et al. Evolutionary dynamics of *Staphylococcus aureus* during progression from carriage to disease [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(12):4550-4555.
- [15] Mwangi MM, Wu SW, Zhou Y, et al. Tracking the in vivo evolution of multidrug resistance in *Staphylococcus aureus* by whole-genome sequencing [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(22):9451-9456.
- [16] Holden MT, Lindsay JA, Corton C, et al. Genome sequence of recently emerged, highly transmissible, multi-antibiotic- and antiseptic-resistant variant of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, sequence type 239 (TW) [J]. J Bacteriol, 2010, 192(3):888-892.
- [17] Deurenberg RH, Beisser PS, Visschers MJ, et al. Molecular typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates collected in the Yogyakarta area in Indonesia, 2006 [J]. Clin Microbiol Infect, 2010, 16(1):92-94.
- [18] Castillo-Ramirez S, Corander J, Martinen P, et al. Phylogeographic variation in recombination rates within a global clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. Genome Biol, 2012, 13(12):R126.
- [19] Song Y, Du X, Li T, et al. Phenotypic and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* recovered from different clinical specimens of inpatients at a teaching hospital in Shanghai between 2005 and 2010 [J]. J Med Microbiol, 2013, 62:274-282.
- [20] Stegger M, Price LB, Larsen AR, et al. Genome sequence of *Staphylococcus aureus* strain 11819-97, an ST80-IV European community-acquired methicillin-resistant isolate [J]. J Bacteriol, 2012, 194(6):1625-1626.
- [21] Koreen L, Ramaswamy SV, Graviss EA, et al. spa typing method for discriminating among *Staphylococcus aureus* isolates: implications for use of a single marker to detect genetic micro- and macrovariation [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(2):792-799.
- [22] Espadinha D, Faria NA, Miragaia M, et al. Extensive dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) between the hospital and the community in a country with a high prevalence of nosocomial MRSA [J]. PLoS One, 2013, 8(4):e59960.
- [23] Hanssen AM, Kjeldsen G, Sollid JU. Local variants of *Staphylococcal cassette chromosome mec* in sporadic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococci*: evidence of horizontal gene transfer [J]? Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(1):285-296.
- [24] Price JR, Didelot X, Crook DW, et al. Whole genome sequencing in the prevention and control of *Staphylococcus aureus* infection [J]. J Hosp Infect, 2013, 83(1):14-21.
- [25] Harris SR, Feil EJ, Holden MT, et al. Evolution of MRSA during hospital transmission and intercontinental spread [J]. Science, 2010, 327(5964):469-474.

(收稿日期:2013-07-28)

(本文编辑:万玉立)

读者·作者·编者

本刊 2013 年审稿专家名单

(按姓氏拼音排列;截止日期:2013-12-31)

曹彬, 曹广文, 曹卫华, 柴君杰, 陈东科, 陈坤, 陈素良, 陈维清, 陈文, 陈曦, 陈裕明, 陈园生, 程颖, 崔步云, 崔颖, 党少农, 丁建华, 董柏青, 董碧蓉, 方向华, 高立冬, 高婷, 龚向东, 龚震宇, 郭建花, 郭志荣, 海荣, 郝琴, 何耀, 贺建华, 胡东生, 胡源, 华琦, 黄久仪, 姜垣, 静进, 阚海东, 李杰, 李劲松, 李敬云, 李硕硕, 李伟, 李献云, 李晓松, 李秀央, 梁争论, 廖苏苏, 林玫, 林鹏, 刘爱忠, 刘殿武, 刘广文, 刘莉, 刘列钧, 刘民, 刘洋, 姜晓民, 卢次勇, 卢亦愚, 鲁亮, 陆家海, 吕繁, 吕嘉春, 吕筠, 栾荣生, 马冠生, 马会来, 马家奇, 马文军, 马依彤, 马越, 门可, 米杰, 潘凯枫, 潘晓红, 裴丽君, 彭晓旻, 彭志行, 钱明, 钱渊, 邱洪斌, 曲成毅, 任爱国, 任泽舫, 阮玉华, 赛晓勇, 邵祝军, 施榕, 时景璞, 苏虹, 孙承业, 孙强正, 谭红专, 汤奋扬, 汤哲, 唐青, 唐耀武, 滕卫平, 田庆宝, 汪天平, 王蓓, 王滨有, 王多春, 王建华, 王金桃, 王岚, 王璐, 王鸣, 王千秋, 王全意, 王素萍, 王薇, 王忆军, 王增珍, 王哲, 王振海, 王志萍, 王志玉, 温博海, 乌正赓, 武俊青, 武鸣, 夏连续, 项永兵, 肖水源, 肖颖, 谢娟, 徐爱强, 徐飏, 许汴利, 闫永平, 严杰, 严卫丽, 阎丽静, 颜虹, 杨春霞, 杨土保, 杨泽, 姚应水, 殷文武, 于普林, 于雅琴, 余运贤, 曾年华, 曾哲淳, 詹思延, 张北川, 张国刚, 张建中, 张孔来, 张丽杰, 张丽娟, 张茂俊, 张顺祥, 张卫东, 张迎修, 张永振, 张之伦, 张智君, 赵方辉, 赵根明, 赵景波, 赵亚双, 赵一鸣, 郑素华, 郑莹, 周宝森, 周脉耕, 朱谦, 朱益民, 庄勤, 祖荣强